

**DER EINFLUSS VON RIBONUKLEINSÄURE
AUF DIE DURCH ALLOPURINOL
INDUZIERTER OROTAZIDURIE**

Eva Maria Hofacker

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553812_0075

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr.med. N. Zöllner

DER EINFLUSS VON RIBONUKLEINSÄURE AUF DIE DURCH
ALLOPURINOL INDUZIERTER OROTAZIDURIE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Eva Maria Hofacker, geb. Hoetschl
aus München

1975

Gedruckt mit Genehmigung der Universität München

Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. W. Gröbner
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. N. Zöllner
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	10.2.1976



INHALTSVERZEICHNIS

Seite

EINLEITUNG	1
I. METHODIK	9
1. Versuchsanordnung	9
2. Methoden	12
a) Enzymatische Bestimmung der Serumharnsäure mit Uricase	12
b) Photometrische Bestimmung von Orotidin und Orotsäure im Urin	14
II. ERGEBNISSE	18
1. Ergebnisse zur Serumharnsäurebestimmung	18
2. Ergebnisse zur Orotsäure- und Orotidinbestimmung	19
3. Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse	24
4. Graphische Darstellung der Ergebnisse	33
III. DISKUSSION	48
1. Diskussion zu den Methoden	48
2. Diskussion der Ergebnisse	48
ZUSAMMENFASSUNG	50
LITERATURVERZEICHNIS	51
ANHANG: Diätspeisepläne	53

EINLEITUNG

Auf der Suche nach Antitumorsubstanzen wurde 1956 von Robins, Falco und Hitchings Pyrazolo- (3,4-d)-Pyrimidin, zu dem auch Allopurinol als 4-Hydroxypyrazolo-(3,4-d)-Pyrimidin zählt, synthetisiert. Die Pyrazolopyrimidine erwiesen sich als zytostatisch unwirksam, es zeigte sich aber bald, daß diese Substanzen Hemmstoffe und darüber hinaus Substrat für die Xanthinoxydase sind, wobei Allopurinol am stärksten wirkt (Feigelson und Mitarb., 1957).

Allopurinol ist ein Isomer von Hypoxanthin. Unter physiologischen Bedingungen hemmt Allopurinol im Wettbewerb um die Xanthinoxydase die Produktion von Harnsäure aus Hypoxanthin und Xanthin sehr stark, auch das dabei entstehende Oxipurinol hemmt die Xanthinoxydase (Abb. 1 und Abb. 2).

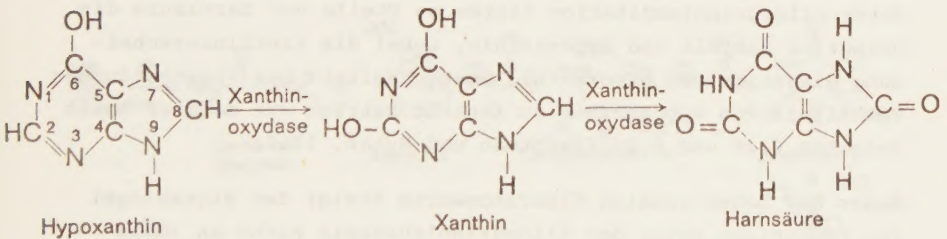


Abb. 1: Abbau von Hypoxanthin und Xanthin zu Harnsäure

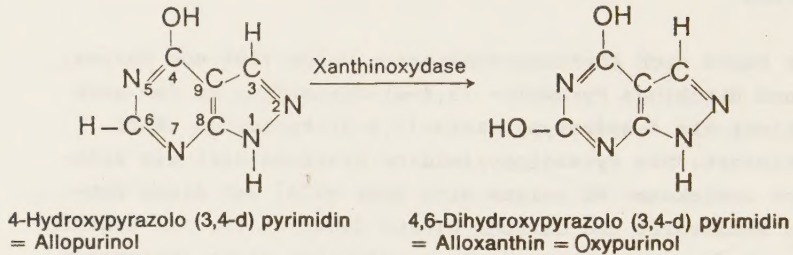


Abb. 2: Oxydation von Allopurinol zu Oxipurinol

Die Wirkungsweise von Allopurinol, nämlich die Reduzierung des Serumharnsäurespiegels durch Verminderung der Harnsäureproduktion, ist bekannt. In der Therapie der Gicht findet sie Verwendung.

Unter Allopurinolmedikation treten an Stelle von Harnsäure die Oxipurine Xanthin und Hypoxanthin, wobei die Xanthinausscheidung diejenige von Hypoxanthin überschreitet. Das Ausscheidungsverhältnis von Hypoxanthin zu Xanthin beträgt auf molarer Basis zwischen 0,28 und 0,26 (Sweetman und Nyhan, 1967).

Wegen der hohen renalen Clearancewerte steigt der Blutspiegel von Oxipurinen unter der Allopurinoltherapie nicht an (Goldfinger und Mitarb., 1965).

In der mittleren Dosierung von 200 bis 400 (max. bis 800) mg Allopurinol wird über ernstere Nebenwirkungen in der Literatur kaum berichtet.

Gerade wegen der Bedeutung für die Pathogenese und Therapie der Arthritis urica wurde der Purinstoffwechsel schon seit langem gründlich untersucht. Dagegen liegen über den Pyrimidinstoffwechsel erst seit dem letzten Jahrzehnt genauere Forschungsergebnisse vor.

Sowohl Purin- als auch Pyrimidinnukleotide sind Bausteine der Desoxyribonukleinsäure und der Ribonukleinsäure (DNS bzw. RNS). Da beide Nukleotide zu annähernd äquimolekularen Mengen in die Nukleinsäuresynthese eingehen, darf man sicher enge Stoffwechselverknüpfungen annehmen.

Wichtige Aufschlüsse über den Pyrimidinstoffwechsel des Menschen lieferten die sehr seltene hereditäre Orotazidurie und die medikamentös induzierte Orotazidurie.

Abb. 3 zeigt schematisch die Pyrimidinbiosynthese des Menschen: Aus Orotsäure entsteht das erste Pyrimidinnukleotid durch Reaktion von Orotsäure mit Phosphoribosyl-Pyrophosphat (Orotidin-5-monophosphat). Diese Reaktion wird durch das Enzym Orotat-phosphoribosyl-Transferase katalysiert. Schließlich wird Orotidin-5-monophosphat durch das Enzym Orotidyl-Decarboxylase dekarboxyliert. Siehe dazu Abb. 4.

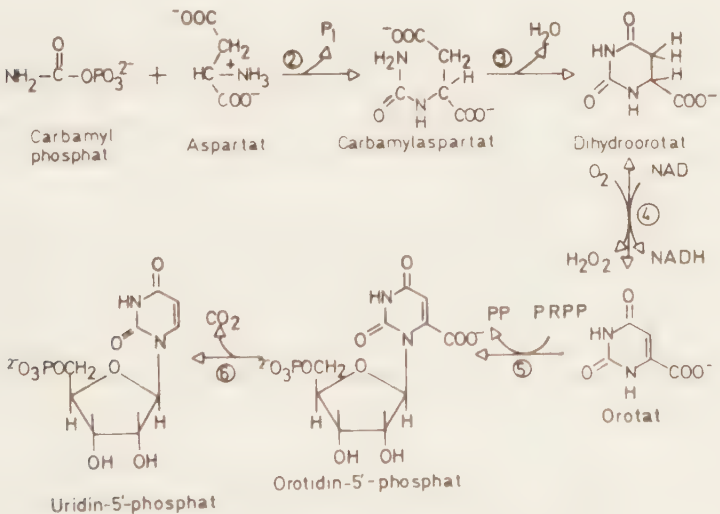


Abb. 3: Pyrimidinbiosynthese des Menschen

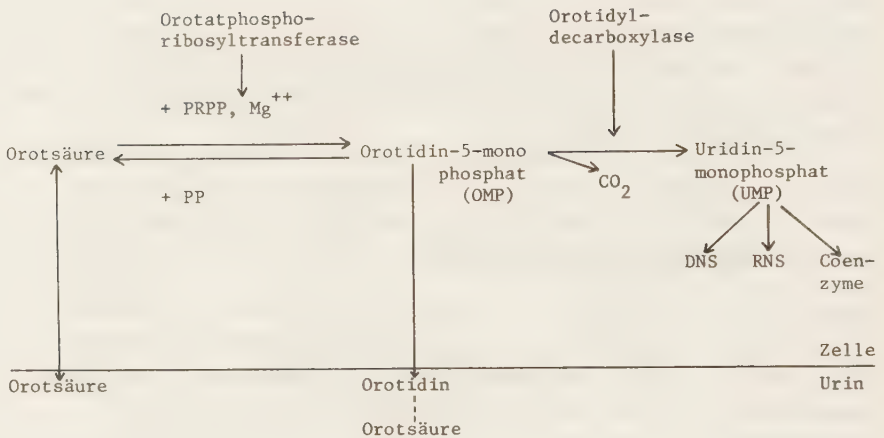


Abb. 4: Stoffwechsel der Orotsäure

Im Jahre 1970 wurde erstmals bekannt, daß Allopurinol und sein hauptsächlicher Metabolit Oxipurinol die Pyrimidin-de-novo-Synthese hemmen (Fox et. al.). Nach 3 bis 4tägiger Verabreichung von 200 bis 800 mg Allopurinol täglich wird bei Gichtkranken ein starker Anstieg der renalen Ausscheidung von Orotidin und Orotsäure hervorgerufen.

Der Nachweis einer vermehrten Ausscheidung von Orotsäure und Orotidin läßt vermuten, daß die Umwandlung von Orotsäure zu Uridin-5-monophosphat gestört ist. Diese für die Pyrimidin-de-novo-Synthese entscheidende Reaktion wird von den Enzymen Orotatphosphoribosyl-Transferase und Orotidyl-Dekarboxylase katalysiert.

In vitro fanden Kelley und Mitarb. (1970) Anhaltspunkte dafür, daß im Säugetierorganismus eine Umwandlung von Allopurinol in Allopurinolribonukleotid möglich ist. Allopurinolribonukleotid, Oxipurinolribonukleotid sowie Xanthinmonophosphat vermögen in

Gegenwart von 5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphat (PRPP) und Hypoxanthin-Guaninphosphoribosyltransferase die Aktivität der Orotidyl-Dekarboxylase stark zu hemmen. In Ergänzung dazu lieferte eine weitere Arbeit von Beardmore und Kelley (1971) genauere Untersuchungsbefunde. Man fand erstens, daß die Gabe von Oxipurinol alleine zu einer höheren Excretionsrate von Orotsäure und Orotidin führte, als dies unter Allopurinolgabe gesehen wurde. Zweitens wurde beobachtet, daß Oxipurinol ein um das Sechsfache stärkerer Hemmer der Pyrimidin-de-novo-Synthese als Allopurinol ist. Man nahm deshalb an, daß Metaboliten von Oxipurinol, genauer zwei verschiedene Ribonukleotidderivate gebildet werden, nämlich 1-Oxipurinol-ribonukleotid durch das Enzym Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyl-Transferase (HGPRT) und 7-Oxipurinolribonukleotid durch das Enzym Orotatphosphoribosyltransferase (OPRT). Siehe Abb. 5.

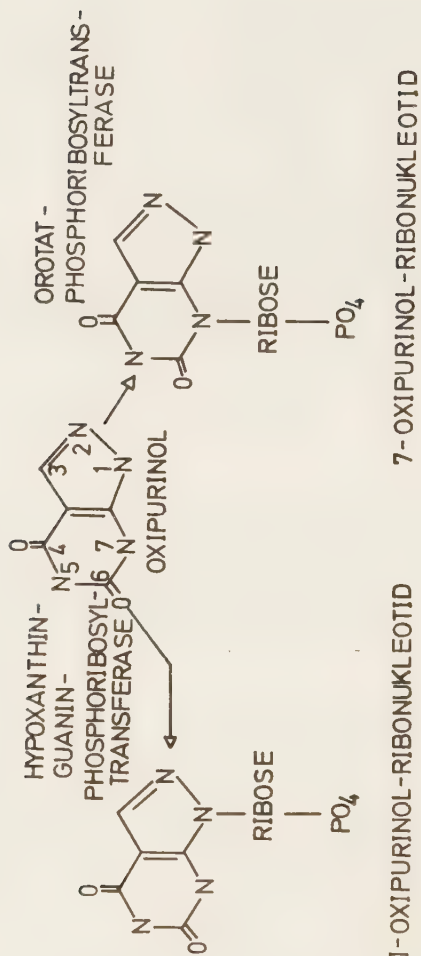


Abb. 5: Umwandlung von Oxipurinol in die Ribonukleotidderivate
(nach Beardmore und Kelley)

Vermutlich ist das 7-Oxipurinolribonukleotid der einzig verantwortliche Abkömmling für die Hemmung der Pyrimidinbiosynthese, beobachtet bei Patienten mit Lesch-Nyhan-Syndrom, d.h. mit fehlendem HGPRT-Enzym.

Klinische Folgen dieses hemmenden Effektes auf die Pyrimidinbiosynthese sind bei Patienten, die mit Allopurinol behandelt werden, nicht bekannt. Man weiß, daß Patienten mit einer homozygoten Erbanlage bezüglich eines Mangels an Orotatphosphoribosyl-Transferase oder Orotidyl-Dekarboxylase eine Orotazidurie, megaloblastäre Anämie und Entwicklungsstörungen haben. In der Weltliteratur sind bisher acht solche Fälle bekannt (Orotazidurie Typ I und II). Siehe dazu nachfolgende Einteilung aller Formen der Orotazidurie.

Einteilung der Orotazidurie:

- I Erbliche Orotazidurie mit zweifachem Enzymdefekt (Typ I)
- II Erbliche Orotazidurie mit selektivem Orotidyl-Dekarboxylasemangel (Typ II)
- III Orotazidurie mit Mangel an Ornithin-Transkarbamylase als Ausdruck einer Störung im Harnstoffzyklus
- IV Medikamentös bedingte Orotazidurie

Unter den Störungen des menschlichen Pyrimidinstoffwechsels kann man der Ursache nach zwei Hauptgruppen unterscheiden:
Eine autosomal rezessiv vererbbare primäre und eine sekundäre medikamentös induzierte Form der Orotazidurie.

Obwohl die hereditäre Orotazidurie eine seltene Erkrankung ist, hat sie doch eine wissenschaftliche Bedeutung, weil es sich um die bis jetzt einzig bekannte Störung im Pyrimidinstoffwechsel handelt.

In der folgenden Arbeit sollte der Einfluß von Ribonukleinsäure (RNS) auf die durch Allopurinol induzierte Orotazidurie

untersucht werden. Parallel dazu wurde der Serumharnsäure-
spiegel bestimmt. Dabei wurden durch Einhaltung einer streng
purinarmen Diät exogene Faktoren weitgehend ausgeschlossen.

I METHODIK

1. Versuchsanordnung

Versuchspersonen:

Am Versuch beteiligten sich drei männliche, gesunde freiwillige Personen im Alter von 24 bis 25 Jahren, deren Familien- noch Eigenanamnese Hinweise auf eine primäre Hyperurikämie erbrachte. Die Versuchspersonen gingen während des Versuchs ihrer normalen Tätigkeit nach.

Diät:

Von der Ernährungsberatung der Klinik wurde in Form von sieben Tagesplänen eine streng isocalorische, purinarmer Diät erstellt, die als Basiskost während des gesamten Versuchs verabreicht wurde. (Diätspeisepläne siehe im Anhang). Ihr Purin-N-Gehalt betrug weniger als 10 mg/1000 cal., das sind umgerechnet weniger als 24 mg Harnsäure/1000 cal., ihr Proteingehalt war unter Verwendung von purinfreiem Eiweiß mit 10 Cal.-% konstant. Abb. 6 zeigt den Versuchsablauf.

Versuchsablauf und -dauer:

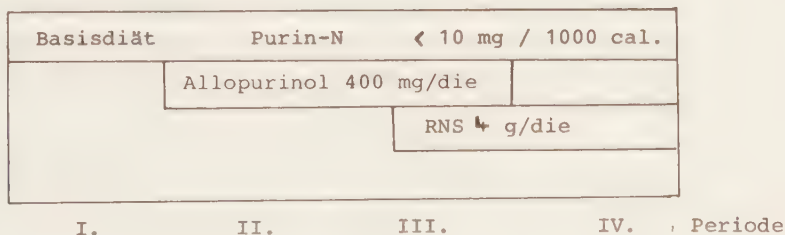


Abb. 6: Versuchsverlauf (schematisch)

Während der gesamten Versuchsdauer wurde die purinarmer Basisdiät von den Versuchspersonen eingehalten. Nach einer ersten Beobachtungsperiode wurde im Abschnitt II 400 mg Allopurinol⁺ in vier Gaben über den Tag verteilt zugesetzt. In der darauffolgenden dritten Phase wurde noch zusätzlich RNS⁺⁺ (4g), wiederum in vier Dosen über den Tag verteilt, verabreicht. Im vierten und letzten Abschnitt wurde Allopurinol abgesetzt und unter Beibehaltung der Basisdiät nur noch RNS gegeben.

In einem Vorversuch mit der Versuchsperson M.H. wurde jeweils sechs Tage nach dem oben genannten Schema verfahren, an Abschnitt IV (Basisdiät + 4g RNS) gliederte sich außerdem eine fünfte Periode unter reiner Basisdiät (wie Periode I) zur Kontrolle an. Die Gesamtdauer des Versuchs betrug somit 31 Tage. Am 22. Versuchstag (IV. Abschnitt im Versuch) erkrankte die Versuchsperson M.H. an einem fieberhaften Virusinfekt, der zu irregulären Versuchsbedingungen führte, die praktisch erst ab dem 28. Kontrolltag wieder als normalisiert betrachtet werden können.

Der Vorversuch brachte zahlreiche Erfahrungen, sowohl im Hinblick auf die technisch-organisatorische Durchführung, als auch bezüglich der erzielten Ergebnisse:

Der Hauptversuch mit den Versuchspersonen K.S. und W.K. wurde zwar analog dem beschriebenen Schema durchgeführt, doch wurde die Dauer der einzelnen Abschnitte nicht konstant eingehalten; sie richtete sich nach der Erreichung gleichbleibender Serumharnsäure-Werte. Daraus resultierten Perioden von 11 (I. Abschnitt), 9 (II. Abschnitt), 9 (III. Abschnitt) sowie 7 bzw. 8 (IV. Abschnitt) aufeinanderfolgenden Tagen. Als Gesamtdauer des Versuchs ergibt sich nun eine Anzahl von 37 (bzw. von 36 bei Versuchsperson W.K.) Tagen.

⁺ Allopurinol (Zyloric^R) Burroughs Wellcome & Co., London

⁺⁺ Ribonukleinsäure: RNS (Hefe) 15332 RRAA, Boehringer, Mannheim

Meßgrößen:

1. Tägliche Harnsäurekonzentration im Nüchternblut.
2. Entsprechend dazu die Orotidin- und Orotsäurekonzentration im 24-Std.-Urin.

Der Urin wurde über Chloroform gesammelt und kurz vor Bestimmung neutralisiert, um ausgefallene Kristalle zu lösen. Die Tagesmenge wurde gemessen und in Proben zu ca. 50 ml bei -18°C bis zur Durchführung der Bestimmungen aufbewahrt.

Ein möglichst gleichbleibendes Urin-Tagesvolumen wurde mittels geregelter Flüssigkeitszufuhr und Kochsalzeinschränkung zu erreichen versucht. Die mittleren Ausscheidungsvolumina lagen zwischen 1200 und 1400 ml/die.

2. Methoden

- a) Bestimmung der Serumharnsäure mit Uricase (Modifikation der enzymatischen Harnsäurebestimmung nach Praetorius und Paulsen von N. Zöllner, 1963)

Prinzip:

Die Methode beruht auf dem Abbau der Harnsäure durch Uricase zum Allantoin, das weder die für die Harnsäure typische Ultraviolettabsorption bei 293 m μ aufweist, noch die zum Nachweis der Harnsäure üblichen Reaktionen gibt. Der Extinktionsabfall beträgt bei Verwendung des angegebenen Glycinpuffers 0.0745 für eine Harnsäurekonzentration von 1 μ g/ml und eine Küvetten-Schichtdicke von 1 cm.

Lösungen:

Glycinpuffer-Stammlösung 0,66 molar, pH 9,3

In 200ml destilliertem Wasser werden 25,0 g kristallines Glycin aufgelöst, 110ml nNaOH zugegeben und auf die 500ml Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Mittels einer Glaselektrode wird der pH-Wert kontrolliert und falls nötig durch tropfenweise Zugabe 5n HCl bzw. NaOH eingestellt. Die Lösung ist über Chloroform im Kühlschrank aufbewahrt haltbar.

Glycinpuffer-Gebrauchslösung

Sie entsteht durch 1:10 Verdünnung der Stammlösung mit destilliertem Wasser.

Enzymstammlösung

Sie entsteht durch Auflösung einer Uricase-Ampulle⁺ in 0,25ml der Glycinpuffer-Gebrauchslösung; diese Lösung ist ca. 14 Tage im Kühlschrank haltbar.

⁺ Uricase Löwens, Lovens Kemiske Fabrik, Kopenhagen

Enzymgebrauchslösung

Die Uricase-Gebrauchslösung wird vor der Durchführung einer Bestimmung 1:100 verdünnt. Die Eigenextinktion der Lösung liegt unter diesen Bedingungen bei 0,010 - 0,015.

Durchführung:

In einem 25ml Meßkölbchen wird 1ml Serum mit der Puffer-Gebrauchslösung aufgefüllt. Zweckmäßig ist vorsichtiges Mischen, da das Serum im alkalischen Milieu leicht schäumt; außerdem muß von diesem Schritt an zügig weiter gearbeitet werden, um eine Oxydation der Harnsäure zu vermeiden. Für die photometrische Bestimmung werden folgende Ansätze gebraucht:

- 1) Zur Bestimmung der Eigenextinktion des Enzyms ($=E_E$)
 - a) 2ml Puffer-Gebrauchslösung
1ml Uricase-Gebrauchslösung
 - b) 3ml Puffer-Gebrauchslösung
- 2) Zur Bestimmung des Extinktionsabfalls im Serumzusatz ($=E_{HS}$)
 - a) 2ml verdünntes Serum
1ml Puffer-Gebrauchslösung
 - b) 2ml verdünntes Serum
1ml Uricase-Gebrauchslösung

Um eine Verunreinigung mit Fermentspuren zu vermeiden, erfolgt die Enzymzugabe zuletzt; anschließend werden alle Ansätze gut durchgeschüttelt und 20 Min. bei Raumtemperatur stehen gelassen.

Die photometrische Ablesung erfolgt an einem Spektralphotometer bei Wellenlänge 293 m μ mit Quarzküvetten von 10 mm Schichtdicke. Die Extinktion der Probe mit Uricase-Gebrauchslösung wird gegen die Extinktion der Probe mit Puffer-Gebrauchslösung als Nullwert abgelesen; ebenso wird bei den Serumzusätzen die Probe mit Uricase-Gebrauchslösung als Nullwert gegen die Probe mit Puffer-Gebrauchslösung abgelesen.

Der Extinktionsabfall im Serumzusatz ergibt sich aus der Differenz der Extinktionen der Proben vor und nach Enzymwirkung. Nach einem Intervall von 5 Min. wiederholt man die Ablesung der Serumansätze als Stichprobe um festzustellen, ob die Uricase Reaktion abgeschlossen ist und somit die Extinktionen in diesem Zeitraum konstant geblieben sind.

Berechnung der Harnsäurekonzentration:

Die Harnsäurekonzentration ist proportional der Eigenextinktion der Uricase plus der Differenz aus den Serumansätzen. Unter Berücksichtigung des Extinktionskoeffizienten und der Verdünnungen errechnet sich die Konzentration der Harnsäure nach folgender Formel:

$$\text{Konz.}_{\text{HS}} = \frac{(E_{\text{E}} + E_{\text{HS}})}{2} \times 100 \text{ (mg \%)}$$

- b) Orotsäurebestimmung mit dem Urinary Screening Test
(Nach L.E. Rogers, F. Stanley Porter, Pediatrics 1968)

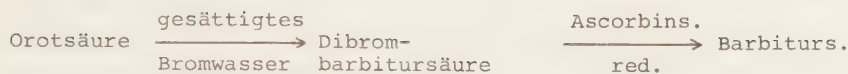
Prinzip:

Der Test beruht auf der Umwandlung der Orotsäure in Barbitursäure. Gesättigtes Bromwasser reagiert mit Orotsäure zu 5'-Dibrombarbitursäure, durch Ascorbinsäure wird diese Verbindung dann zu Barbitursäure reduziert. Mit p-Dimethylaminobenzaldehyd (Ehrlichs Reagenz) bildet Barbitursäure einen orangen Farbkomplex, der photometrisch ausgewertet werden kann; das Absorptionsmaximum liegt bei einer Wellenlänge von 480 m μ .

E_{E} = Eigenextinktion des Enzyms

E_{HS} = Extinktionsabfall im Serumzusatz

Schema:



Ehrlichs
→ oranger Farbkomplex
Reagenz

Reine Orotsäure weist nach der Reaktion bei dieser Wellenlänge eine optische Dichte proportional der Konzentration auf. Bei der angestrebten Messung der Orotsäure im Urin bilden jedoch Substanzen, die der Herkunft nach nicht von der Orotsäure abstammen, interferierende Farbprodukte. Im normalen Urin haben sie ein Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von $412 \text{ m}\mu$ und ein Plateau im $480 \text{ m}\mu$ Bereich.

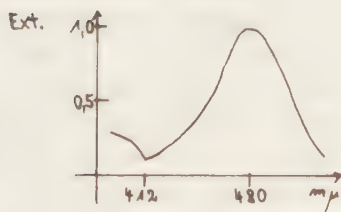


Abb. 7: Absorptionsspektrum reiner Orotsäure

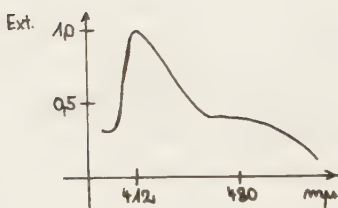


Abb. 8: Absorptionsspektrum von normalem Urin

Das Ergebnis, ein Verhältnis, wird ausgedrückt, indem man die Meßwerte im Bereich von 480 m μ durch die 412 m μ Meßpunkte dividiert. Rogers und Porter empfehlen Verhältnisse von 0,5-0,6 und darunter als normal anzunehmen, jedoch solche von 0,6 und darüber als höchst verdächtig für das Vorhandensein einer Orotazidurie zu betrachten.

Ausführung:

Der aufgetaute Urin wird filtriert und im Wasserbad schonend auf ca. 37°C erwärmt, um eventuell ausgefallene Orotsäurekristalle wieder zu lösen. Eine 0,5ml Probe wird mit 2,5ml eines 0,2 molaren Kaliumcitratpuffers (pH 2,5) gemischt und im Abzug mit 0,5ml gesättigten Bromwassers versetzt. Zur besseren Verteilung der Reagentien wird die Probe vorsichtig geschüttelt und nach einer Minute mit 1,0ml 5% Ascorbinsäure in Kaliumcitratpuffer zur Reaktion gebracht. Nach weiteren zwei Minuten wird die Farbreaktion mit 2,0ml 2,5% p-Dimethylaminobenzaldehyd in n-Propanol eingeleitet. Der Leerwert der Probe besteht aus 3ml Kaliumcitratpuffer und wird sonst genauso wie die Urinproben behandelt.

Nach 90 Minuten werden die Extinktionen bei einer Wellenlänge von 480 m μ und 412 m μ an einem Zeiss-Photometer abgelesen. Die Küvetten werden vorher mit Aqua dest. abgeglichen und die Urinproben (Triplikate) jeweils gegen den Leerwert bestimmt.

Herstellung einer Orotsäure-Stammlösung:

Für die Aufstellung einer Eichkurve und eines Spektrums von Orotsäure erweist sich die Verwendung einer 50mg % Stammlösung als praktische Form. Mit einem Magnetrührer rührt man die Orotsäure in Aqua bidest. ca. 1 Std.; zur besseren Löslichkeit stellt man zusätzlich einen pH-Wert von 9 mit einigen Tropfen 0,1n NaOH ein. Nach dem Rühren wäscht man den Magneten mit Aqua dest. in das Meßkölbchen ab und füllt es erst zuletzt bis zur Eichmarke auf.

Folgende Verdünnungen kommen zur Anwendung:

50mg % Orotsäurelösung⁺ in Aqua dest. = 0,5mg/ml = 500 γ /ml

- | | | | | | |
|----|-----------------|-----|-----------------|---|------------------|
| 1) | 1ml Stammlösung | ad | 25ml Aqua dest. | = | 20 γ /ml |
| 2) | 1ml | " " | 50ml " " | = | 10 γ /ml |
| 3) | 1ml | " " | 100ml " " | = | 5 γ /ml |
| 4) | 5ml Lösung 3) | " " | 10ml " " | = | 2,5 γ /ml |

⁺ Orotsäure, MG 156,10, Schuchardt München

II. ERGEBNISSE

1. Ergebnisse zur Serumharnsäurebestimmung

Nach der modifizierten Methode von N. Zöllner mit Uricase wird die tägliche Serumharnsäurekonzentration im Nüchternblut der drei am Versuch beteiligten Personen bestimmt.

Einen typischen Versuchsverlauf zeigt z.B. die Versuchsperson K.S. (Abb. 13):

Unter purinarmer Ernährung allein sinkt der Harnsäurespiegel im Serum von einem Ausgangswert von 5,05 mg% auf 3,5 mg% ab, das entspricht einer Senkung um fast 30%.

Ein weiterer Abfall dieser Harnsäurekonzentration ergibt sich aus der zusätzlichen Einnahme von 400mg Allopurinol pro Tag. Der Ausgangswert dieser Periode von 3,50 mg% fällt um nahezu 45% auf konstante Werte um 1,95 mg% ab.

Werden im dritten Versuchsabschnitt zu Basisdiät und Allopurinol-medikation noch 4g RNS (entsprechend 413mg Purin-N) verabreicht, so steigt durch die exogene Purin-N Belastung die Serumharnsäure um 1 mg% verhältnismäßig wenig an.

Nach Absetzen der Allopurinolgabe in der letzten Versuchsperiode steigt unter Beibehaltung der Basisdiät und der oralen RNS-Zufuhr der Serumharnsäurespiegel auf 7,0 mg% an, ab dem 6. Tag befindet sich die Versuchsperson praktisch in einer hyperurikämischen Phase.

In diesen Grundzügen zeigen alle Versuchspersonen das gleiche Verhalten. Die Dauer des Vorversuchs mit der Versuchsperson M.H. war etwas zu kurz, um auf dieselben konstanten Ergebnisse am Ende der jeweiligen Periode zu gelangen, wie bei den Versuchspersonen K.S. und W.K..

In Tabelle 1-3 Seite 24-26 sind die Serumharnsäurewerte gemäß den einzelnen Versuchsabschnitten für jede Versuchsperson aufge-

führt. Eine graphische Darstellung eines Versuchsablaufs zeigt Abb. 13 Seite 43.

2. Ergebnisse zur Orotsäurebestimmung

Die Orotsäure wurde ausschließlich mit dem beschriebenen "Urinary Screening Test" nach Rogers und Porter bestimmt. Um über das Ergebnis der Orotsäureexcretion während des vierphasigen Diätversuchs einen besseren Überblick zu erhalten oder etwaige Fehlerquellen aufdecken bzw. ausschließen zu können, wurden mehrere vorweggenommene Untersuchungen mit Orotsäure als für unbedingt notwendig erachtet.

a) Aufstellung einer Eichkurve

Als erstes wird eine Eichkurve aufgestellt, um über die Orotsäureelimination während der vier verschiedenen Versuchsperioden quantitative Aussagen machen zu können. Die Verdünnungen werden einer 50 mg% Orotsäurelösung in Aqua dest. entnommen. Meßpunkte für die Eichkurve siehe aus Tab. 4 Seite 27. Die Auswertung ergibt eine Gerade, d.h., daß eine lineare Funktion vorliegt. Die Ablesegenauigkeit dieser Eichkurve reicht bis in den Bereich um $1 \gamma / 0,5 \text{ ml}$; also kann Orotsäure in äußerst geringen Mengen noch quantitativ nachgewiesen werden (siehe Abb. 9 Seite 35).

b) Eichkurve Urin und Orotsäure

An Stelle von Aqua dest. tritt Urin als Lösungsmittel, sonst sind die Versuchsbedingungen gleich dem vorhergehenden Versuch. Die resultierende Eichkurve weist eine lineare Funktion auf, geht aber zum Unterschied der Eichkurve von Abb. 9 mit reiner Orotsäurelösung nicht durch den Nullpunkt, da der Urin selbst geringe Mengen Orotsäure enthält (siehe Abb. 10 und Tab. 5).

c) Spektrum reiner Orotsäure⁺

Zwei Proben mit jeweils 0,5ml Einsatz einer Orotsäurelösung (10μ / 0,5ml) werden der Farbreaktion nach Rogers und Porter unterworfen und die Extinktionen im Wellenlängenbereich von 400 bis 500 $m\mu$ gemessen. Die Meßwerte sind aus Tab. 6 Seite 18 ersichtlich. Die Auswertung ergibt für die Orotsäurelösung im Wellenlängenbereich von 480 $m\mu$ ein deutliches Absorptionsmaximum (Abb. 11).

Um sicher zu sein, daß im Wellenlängenbereich von 480 $m\mu$ tatsächlich nur Orotsäure bzw. Orotidin absorbieren, wurden mehrere in Frage kommende Substanzen auch dem Screening-Test unterworfen und photometrisch bestimmt: Allopurinol, Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin z.B. absorbieren bei dieser Wellenlänge nicht und konnten somit als eventuell interferierende Substanzen ausgeschlossen werden.

d) Verschiedene Urinspektren unter Basisdiät

Fünf Urinproben mit jeweils 0,5ml Einsatz werden nach dem Screening-Test im Wellenlängenbereich von 400 bis 500 $m\mu$ gemessen (siehe dazu Tab. 7 Seite 28).

In Übereinstimmung der Ergebnisse von Rogers und Porter liegen im Vergleich zum Spektrum reiner Orotsäurelösung die Absorptionsmaxima im Wellenlängenbereich von 412 $m\mu$; im Bereich von 480 $m\mu$ liegt ein Plateau vor. Die Höhe der einzelnen Absorptionsmaxima entsteht durch die unterschiedlichen Urinkonzentrationen (siehe Abb. 12 Seite 41).

Die vorausgehenden Versuche mit Orotsäure brachten wertvolle Befunde sowohl in quantitativer als auch in qualitativer Sicht und ermöglichten so erst die eigentliche Orotsäurebestimmung innerhalb der verschiedenen Phasen des Diätversuchs.

⁺ Orotsäure Schuchardt, München, MG 156,10

Im häufig gebrauchtem Begriff "Orotsäureausscheidung" wird zugleich auch die Orotidinausscheidung mit einbezogen, da sie durch die Nachweismethode nicht gesondert behandelt wurde.

Um bei der Berechnung der Ergebnisse von den einzelnen Tages-schwankungen in der Ausscheidung unabhängig zu sein, wurden Werte mit niedrigem Tagesvolumen mit dem nachfolgenden höheren Wert gemittelt. Auch die Umrechnung auf Tagesextinktionen sollte diesen Fehler ausgleichen.

Tagesextinktion = Tagesvolumen $\times 2 \times \bar{E}x_{480}$ bzw. $\bar{E}x_{412m\mu}$

Die Orotsäurekonzentration wurde nach folgender Formel bestimmt:

$$\bar{E}x_{480} - \bar{E}x_{412/3} ;$$

der ermittelte Extinktionswert wurde in der Eichkurve aufgesucht und daraus unter Berücksichtigung der täglichen Urinvolumina die Orotsäurekonzentration in mg/die berechnet.

Einen typischen Versuchsverlauf zeigt z.B. wieder die Versuchsperson K.S.: (Siehe dazu auch Tab. 9 und Abb. 13).

Unter der Basisdiät schwankt die Orotsäureausscheidung im Urin der Testperson im Mittel um Extinktionswerte von 0,139 im Wellenlängenbereich von 480 m μ . Nach der genannten Formel wurde daraus eine mittlere Tagesausscheidung von ca. 1,53 mg Orotsäure im Urin berechnet. Der Mittelwert bezieht sich jeweils auf die letzten drei aufeinanderfolgenden Tage des betreffenden Abschnitts.

Im Versuchsabschnitt II steigt unter der Medikation von 400 mg/die Allopurinol die Orotsäurekonzentration im Urin stark an. Im Mittel beträgt die tägliche Orotsäureausscheidung 24,87mg.

In der dritten Phase wird unter Beibehaltung der Allopurinolmedikation und der zusätzlichen Zufuhr von Ribonukleinsäure (4g/die) die Orotazidurie wesentlich reduziert. Am Ende der Periode wird eine mittlere renale Ausscheidung von 6,36 mg/die Orotsäure erreicht.

In der letzten Periode wird nach Absetzung der Allopurinolgabe und unter weiterer Einhaltung der Basisdiät und Ribonukleinsäurezufuhr eine Abnahme der renalen Ausscheidung von Orotsäure sogar noch unter die Werte der Ausgangssituation beobachtet. Die mittlere Tagesausscheidung beträgt ca. 1,21 mg renale Orotsäure.

So konstante Verhältnisse am Ende der einzelnen Versuchsperioden wie bei den Serumharnsäureproben konnten in der renalen Orotsäureausscheidung nicht erreicht werden.

In den Grundzügen stimmen auch die Werte der übrigen Versuchspersonen mit dem Ergebnis überein; insbesondere gleichen sich die Ergebnisse der Versuchspersonen K.S. und W.K. besonders deutlich, doch auch bei der Versuchsperson M.H. zeichnet sich der gleiche Versuchsverlauf ab.

Analog den einzelnen Versuchsabschnitten sind die ermittelten Extinktionswerte im Wellenlängenbereich von 480 m μ und 412 m μ , die Mittelwerte der jeweiligen Triplikate, das Verhältnis $\bar{X}_{480}/\bar{X}_{412}$, das Urintagesvolumen, die Tagesextinktionen sowie die renale Orotsäureausscheidung in mg/die für jede Versuchsperson in einer Tabelle auf den Seiten 29 bis 32 zusammengefaßt.

Berücksichtigt man das von Rogers und Porter angegebene Verhältnis $\bar{X}_{480}/\bar{X}_{412}$, so beträgt es in Periode I zwischen 0,3-0,4, d.h. es liegt kein Hinweis auf eine Orotazidurie vor.

Die relativ hohen Werte des $\bar{X}_{480}/\bar{X}_{412}$ Verhältnisses in Abschnitt II um 2,0 sprechen nach dem Ergebnis deutlich für das Vorhandensein einer durch Allopurinol induzierten Orotazidurie.

In der dritten Phase pendeln sich die Werte des angegebenen Verhältnisses bei der Versuchsperson K.S. z.B. zwar langsam ein, doch der letzte Wert liegt klar < 0,6 und somit wesentlich niedriger als im vorhergehenden Versuchsabschnitt; demnach besteht kein Verdacht mehr auf eine Orotazidurie.

Auch im letzten Abschnitt sind die Werte des untersuchten Verhältnisses $< 0,5$, also sicher bezüglich einer Orotazidurie unverdächtig.

In Abb. 14 Seite 45 wird das Verhältnis $\bar{X}_{480}/\bar{X}_{412}$ im Versuchsablauf graphisch dargestellt.

Die Abb. 15 Seite 47 soll noch einmal das unterschiedliche Verhalten der Urinproben in verschiedenen Versuchsabschnitten und Wellenlängenbereichen zeigen.

Unter Basisdiät entspricht das Spektrum dem eines Normalurins. Das Urinspektrum unter der durch Allopurinol induzierten Orotazidurie weist ein Absorptionsmaximum im Bereich von $480 \text{ m}\mu$ auf. In der ersten Phase der RNS-Zufuhr zeigt das Spektrum zwar noch eine deutliche Absorption im Orotsäurebereich, doch im Vergleich zur $412 \text{ m}\mu$ -Absorption überwiegt schon die Letztere.

3. Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse:

Tabelle 1: Serumharnsäurewerte, Versuchsperson M.H.

I Basisdiät Purin-N < 10mg/1000cal.

Nr.	Serumharnsäure in mg%
0	4,05
1	4,40
2	4,00
3	3,55
4	3,65
5	3,97
6	3,50

II Basisdiät + 400 mg/die Allopurinol

7	2,87
8	2,40
9	2,32
10	2,57
11	2,30
12	2,17

III Basisdiät + Allopurinol 400 mg/die + Purin-N 413 mg/die

13	3,17
14	3,32
15	3,65
16	3,90
17	3,35
18	4,45

IV Basisdiät + Purin-N 413mg/die

19	4,00
20	-
21	4,22
22	5,05
23	6,50
24	5,77
25	6,05

V Basisdiät Purin-N < 10mg/1000cal.

26	5,10
27	4,55
28	4,35
29	3,82
30	3,87
31	4,05

} Virusinfekt!

Tabelle 2: Serumharnsäurewerte, Versuchsperson K.S.

I Basisdiät Purin-N < 10mg/1000cal.

Nr.	Serumharnsäure in mg%
0	5,05
1	4,10
2	4,00
3	4,05
4	4,05
5	4,25
6	3,82
7	4,20
8	4,20
9	3,55
10	3,42
11	3,50

II Basisdiät + Allopurinol 400mg/die

12	2,85
13	2,45
14	2,00
15	1,87
16	2,10
17	2,10
18	2,12
19	2,05
20	1,95

III Basisdiät + Allopurinol 400mg/die + Purin-N 413mg/die

21	2,72
22	3,05
23	3,42
24	2,90
25	2,90
26	3,10
27	3,05
28	3,00
29	3,05

IV Basisdiät + Purin-N 413mg/die

30	4,45
31	5,70
32	6,00
33	6,47
34	6,45
35	7,00
36	7,05
37	7,00

Tabelle 3: Serumharnsäurewerte, Versuchsperson W.K.

I Basisdiät Purin-N < 10mg/1000cal.

Nr.	Serumharnsäure in mg%
0	5,10
1	4,57
2	4,52
3	4,52
4	4,60
5	5,15
6	5,12
7	4,80
8	4,80
9	4,40
10	4,45
11	4,50

II Basisdiät + Allopurinol 400mg/die

12	3,95
13	3,40
14	3,02
15	2,87
16	2,95
17	3,05
18	3,02
19	2,95
20	3,02

III Basisdiät + Allopurinol 400mg/die + Purin-N 413mg/die

21	3,05
22	3,65
23	4,05
24	3,60
25	3,45
26	3,60
27	-
28	3,55
29	3,55

IV Basisdiät + Purin-N 413mg/die

30	5,00
31	6,30
32	7,40
33	6,52
34	6,97
35	7,00
36	7,00

Tabelle 4: Meßpunkte für die Eichkurve reiner Orotsäure

Nr.	E480m μ		$\bar{X}$ 480		γ / 0,5ml
1	0,968	0,962	0,970	0,966	20
2	0,482	0,482	0,486	0,483	10
3	0,241	0,238	0,238	0,239	5
4	0,121	0,120	0,121	0,121	2,5

Tabelle 5: Meßwerte für die Eichkurve Urin und Orotsäure

Nr.	E480m μ		γ / ml		$\bar{X}$ 480			
1	0,600	0,620	0,590	20	0,603			
2	0,345	0,375	0,370	10	0,363			
3	0,250	0,280	0,290	5	0,273			
4	0,175	0,215	0,205	2,5	0,198	E412m μ		
5	0,195	0,205	0,210	— Urin leer —	0,450	0,440	0,460	

Tabelle 6: Meßwerte für das Spektrum reiner Orotsäure

Wellenlänge	500	490	480	470	460	450	440	430	420	410	405	400m μ
Probe A	0,346	0,466	0,480	0,400	0,292	0,190	0,113	0,061	0,025	0,003	0,004	0,008
Probe B	0,350	0,472	0,485	0,414	0,296	0,194	0,118	0,067	0,027	0,003	0,004	0,009
$\bar{X}$	0,348	0,469	0,483	0,407	0,294	0,192	0,116	0,064	0,026	0,003	0,004	0,008

Tabelle 7: Meßwerte für verschiedene Urinspektren unter Basisdiät

Wellenlänge	500	490	480	470	460	450	440	430	420	412	410	400m μ
Nr.												
AU 10	0,130	0,150	0,160	0,165	0,170	0,200	0,260	0,340	0,450	0,550	0,500	0,210
$\bar{X}$	0,130	0,155	0,162	0,165	0,170	0,205	0,260	0,330	0,450	0,540	0,495	0,212
	0,130	0,152	0,161	0,165	0,170	0,202	0,260	0,335	0,450	0,545	0,497	0,211
AU 11	0,045	0,062	0,068	0,070	0,072	0,082	0,100	0,130	0,160	0,180	0,165	0,055
$\bar{X}$	0,050	0,065	0,070	0,072	0,075	0,085	0,105	0,130	0,170	0,185	0,180	0,062
	0,047	0,063	0,069	0,071	0,073	0,085	0,102	0,130	0,165	0,183	0,172	0,058
AU 9	0,100	0,120	0,130	0,130	0,135	0,155	0,195	0,240	0,315	0,360	0,358	0,195
$\bar{X}$	0,095	0,112	0,125	0,128	0,130	0,150	0,190	0,240	0,320	0,365	0,360	0,200
	0,098	0,116	0,127	0,129	0,132	0,152	0,197	0,240	0,317	0,362	0,359	0,197
BU 11	0,070	0,082	0,092	0,095	0,095	0,108	0,140	0,172	0,220	0,260	0,255	0,135
$\bar{X}$	0,070	0,082	0,090	0,092	0,092	0,110	0,145	0,175	0,220	0,260	0,250	0,140
	0,070	0,082	0,091	0,093	0,093	0,109	0,142	0,173	0,221	0,260	0,252	0,137
CU 6	0,092	0,102	0,105	0,105	0,108	0,120	0,165	0,195	0,250	0,285	0,275	0,255
$\bar{X}$	0,090	0,100	0,102	0,102	0,106	0,112	0,150	0,175	0,230	0,270	0,255	0,145
	0,091	0,101	0,103	0,103	0,107	0,116	0,157	0,185	0,240	0,277	0,265	0,141

Tabelle 8:
Versuchsperson M.H.

Nr.	← E480 →		→ X480 ←		← E412 →		→ X412 ←		Tages- vol. 480 412		Tages- exst. 480 412	Orotsäure- Excretion (mg/die)		
BASISDIÄT + 400mg Allop., + 400mg + 46 RNS	AU 1	0,122	0,130	0,122	0,125	0,340	0,350	0,350	0,343	800	200	549	0,64	
	AU 2	0,140	0,140	0,130	0,136	0,390	0,395	0,385	0,390	820	223	640	0,49	
	AU 3	0,102	0,104	0,112	0,106	0,305	0,295	0,285	0,306	1005	213	593	0,60	
	AU 4	0,130	0,140	0,125	0,132	0,270	0,265	0,275	0,270	1220	322	659	2,44	
	AU 5	0,110	0,112	0,118	0,113	0,235	0,250	0,270	0,252	1300	294	403	2,08	
BASISDIÄT	AU 6	0,102	0,090	0,095	0,096	0,240	0,240	0,250	0,243	1430	275	695	1,72	
	AU 7	0,320	0,355	0,335	0,336	0,255	0,290	0,265	0,270	1,24	995	669	537	10,75
	AU 8	0,540	0,530	0,540	0,537	0,380	0,400	0,360	0,380	1,41	805	865	612	13,85
	AU 9	0,400	0,450	0,435	0,428	0,250	0,275	0,265	0,263	1,62	1165	997	613	16,78
	AU 10	0,300	0,320	0,315	0,312	0,330	0,305	0,310	0,315	1,00	1265	789	797	11,64
BASISDIÄT + 400mg Allop., + 46 RNS	AU 11	0,310	0,340	0,345	0,332	0,320	0,325	0,310	0,318	1,04	1080	717	687	10,80
	AU 12	0,450	0,480	0,500	0,476	0,325	0,290	0,270	0,295	1,61	1400	1333	826	22,40
	AU 13	0,120	0,122	0,132	0,125	0,080	0,085	0,090	0,085	1,47	1135	284	1930	5,22
	AU 14	0,102	0,092	0,118	0,106	0,145	0,138	0,155	0,146	0,73	1165	247	340	3,26
	AU 15	0,250	0,268	0,258	0,259	0,290	0,290	0,310	0,297	0,87	1035	536	615	7,45
BASISDIÄT + 46 RNS	AU 16	0,265	0,255	0,260	0,260	0,380	0,380	0,400	0,387	0,67	1560	811	1207	8,42
	AU 17	0,370	0,390	0,385	0,382	0,760	0,800	0,820	0,793	0,47	1200	917	1903	6,24
	AU 18	0,355	0,300	0,360	0,357	0,750	0,000	0,800	0,775	0,46	990	707	1535	4,36
	AU 19	0,240	0,230	0,220	0,230	0,520	0,520	0,510	0,513	0,45	950	437	975	2,66
	AU 20	0,270	0,285	0,288	0,281	0,500	0,520	0,510	0,510	0,55	810	455	826	3,89
BASISDIÄT + 46 RNS	AU 21	0,275	0,260	0,250	0,262	0,540	0,520	0,530	0,530	0,49	815	427	864	2,93
	AU 22	0,230	0,195	0,190	0,205	0,430	0,385	0,375	0,397	0,52	1000	410	794	3,20
	AU 23	0,175	0,185	0,200	0,187	0,400	0,420	0,425	0,415	0,45	880	329	730	2,11
	AU 24	0,130	0,140	0,135	0,135	0,390	0,355	0,370	0,372	0,36	1020	275	759	0,82
	AU 25	0,100	0,105	0,125	0,110	0,318	0,325	0,350	0,331	0,36	1150	253	761	-
BASISDIÄT	AU 26	0,125	0,115	0,100	0,113	0,355	0,352	0,330	0,346	0,37	815	184	564	-
	AU 27	0,125	0,000	0,120	0,123	0,370	0,000	0,350	0,360	0,40	905	223	652	0,45
	AU 28	0,135	0,120	0,115	0,123	0,365	0,345	0,350	0,353	0,40	955	235	674	0,57
	AU 29	0,115	0,105	0,125	0,115	0,300	0,305	0,315	0,307	0,38	1125	259	691	0,90
	AU 30	0,150	0,155	0,155	0,153	0,305	0,315	0,325	0,315	0,48	1305	399	822	2,87
	AU 31	0,140	0,120	0,100	0,120	0,270	0,260	0,250	0,260	0,46	1325	318	689	2,12

BASISDIÄT

+ 400mg
Allop., + 400mg
Allopurinol

BASISDIÄT

+ 400mg
Allop., + 48 RNS

BASISDIÄT

+ 48 RNS

BASISDIÄT

BASISDIÄT

Tabelle 9:
Versuchsperson K. S.

Nr.	← E480 →		← E412 →		X̄480 X̄412		TAGES- VOL. (ml)	TAGESEXT.		OROTSÄURE- EXCRETION mg/die
								480	412	
BU 1	0,210	0,222	0,205	0,212	0,418	0,420	0,440	0,426	0,49	3,10
BU 2	0,120	0,160	0,122	0,134	0,326	0,312	0,300	0,313	0,42	2,40
BU 3	0,260	0,260	0,220	0,247	0,500	0,490	0,502	0,497	0,49	3,50
BU 4	0,190	0,206	0,194	0,197	0,460	0,470	0,480	0,470	0,42	1,51
BU 5	0,162	0,150	0,170	0,161	0,440	0,400	0,430	0,423	0,38	1,30
BU 6	0,110	0,092	0,105	0,102	0,250	0,225	0,260	0,245	0,43	1,80
BU 7	0,260	0,270	0,268	0,266	0,625	0,620	0,620	0,622	0,43	2,26
BU 8	0,230	0,230	0,210	0,223	0,520	0,530	0,520	0,523	0,43	2,09
BU 9	0,224	0,215	0,225	0,221	0,535	0,525	0,540	0,533	0,42	1,98
BU 10	0,095	0,085	0,085	0,088	0,240	0,230	0,235	0,235	0,38	1,19
BU 11	0,130	0,105	0,090	0,108	0,245	0,250	0,230	0,242	0,45	2,00
BU 12	0,170	0,158	0,172	0,167	0,225	0,210	0,235	0,223	0,75	8,40
BU 13	0,360	0,390	0,390	0,380	0,275	0,285	0,280	0,280	1,36	20,34
BU 14	0,600	0,600	0,620	0,606	0,420	0,420	0,450	0,430	1,41	18,82
BU 15	0,520	0,530	0,508	0,519	0,260	0,250	0,250	0,253	2,05	33,49
BU 16	0,465	0,500	0,485	0,483	0,430	0,425	0,440	0,432	1,12	13,97
BU 17	0,285	0,280	0,285	0,283	0,150	0,130	0,145	0,142	1,99	29,95
BU 18	0,470	0,480	0,460	0,470	0,235	0,245	0,240	0,240	1,95	28,62
BU 19	0,430	0,440	0,450	0,440	0,285	0,280	0,280	0,282	1,56	22,05
BU 20	0,640	0,620	0,600	0,620	0,365	0,365	0,370	0,367	1,69	23,96
BU 21	0,238	0,235	0,240	0,238	0,230	0,215	0,225	0,223	1,07	12,82
BU 22	0,230	0,225	0,230	0,228	0,295	0,300	0,300	0,298	0,77	8,43
BU 23	0,205	0,235	0,220	0,220	0,300	0,290	0,315	0,302	0,73	8,50
BU 24	0,220	0,220	0,215	0,218	0,265	0,240	0,245	0,250	0,87	7,98
BU 25	0,135	0,145	0,140	0,140	0,210	0,205	0,215	0,210	0,68	4,61
BU 26	0,145	0,135	0,125	0,135	0,200	0,170	0,180	0,183	0,74	6,15
BU 27	0,160	0,140	0,155	0,152	0,205	0,202	0,220	0,209	0,73	5,40
BU 28	0,140	0,135	0,140	0,138	0,160	0,155	0,150	0,155	0,89	9,42
BU 29	0,255	0,255	0,250	0,253	0,470	0,450	0,455	0,458	0,55	4,27

BASISDIÄT

BASISDIÄT

BASISDIÄT

Allopurinol
+ 400 mg

Allop.

Allop.
+ 400 mg

Fortsetzung Tabelle 9:

Nr.	$\longleftrightarrow$ E480 $\longrightarrow$		$\longleftrightarrow$ E412 $\longrightarrow$		$\bar{X}_{480}$	$\bar{X}_{412}$	TAGES- VOL. (ml)	TAGESEXT.		OROTSÄURE- EXCRETION (mg/die)
								480	412	
BU 30	0,220	0,235	0,220	0,225	0,400	0,405	934	421	745	3,92
BU 31	0,200	0,175	0,175	0,183	0,380	0,385	950	348	726	2,47
BU 32	0,180	0,160	0,170	0,170	0,340	0,330	1220	415	800	3,42
BU 33	0,150	0,125	0,125	0,133	0,330	0,340	900	239	603	1,08
BU 34	0,050	0,050	0,045	0,048	0,150	0,140	1765	169	494	0,07
BU 35	0,080	0,080	0,078	0,079	0,245	0,240	1120	177	549	-
BU 36	0,080	0,110	0,090	0,093	0,215	0,225	1670	311	742	1,67
BU 37	0,080	0,075	0,095	0,083	0,190	0,200	1630	271	619	1,96

BASISDIAT
+ 4 g
RNS

Tabelle 10:

Versuchsperson W.K.

Nr.	← E480 →		→ X̄480 ←		← E412 →		→ X̄412 ←		X̄480		TAGES- VOL. (ml)	TAGESEXT.		OROTSAURE- EXCRETION (mg/die)
									480	412				
BASISDIÄT + 400 mg Allop.	CU 1	0,120	0,113	0,130	0,121	0,640	0,600	0,545	0,595	0,20	970	235	1154	-
	CU 2	0,245	0,230	0,225	0,233	0,552	0,531	0,550	0,544	0,43	955	455	1039	2,29
	CU 3	0,000	0,120	0,122	0,121	0,530	0,572	0,560	0,554	0,21	1125	272	1247	-
	CU 4	0,142	0,000	0,123	0,132	0,485	0,480	0,475	0,480	0,28	1215	221	1166	-
	CU 5	0,127	0,000	0,134	0,130	0,568	0,598	0,580	0,582	0,22	785	204	914	-
	CU 6	0,088	0,084	0,098	0,086	0,430	0,432	0,455	0,439	0,20	1070	184	940	-
	CU 7	0,115	0,124	0,100	0,119	0,435	0,420	0,400	0,418	0,29	1030	247	861	-
	CU 8	0,220	0,198	0,210	0,209	0,410	0,423	0,438	0,423	0,49	1020	428	863	3,06
	CU 9	0,178	0,193	0,170	0,180	0,357	0,364	0,360	0,353	0,51	1385	499	978	3,88
	CU 10	0,186	0,198	0,195	0,190	0,582	0,540	0,570	0,564	0,34	780	296	880	0,39
	CU 11	0,090	0,104	0,094	0,095	0,228	0,215	0,220	0,221	0,43	1830	348	809	2,20
BASISDIÄT + 400 mg Allopurinol	CU 12	0,000	0,260	0,280	0,270	0,558	0,548	0,570	0,558	0,48	670	362	748	2,55
	CU 13	0,518	0,522	0,540	0,526	0,442	0,444	0,450	0,445	1,18	1420	1494	1264	22,44
	CU 14	0,480	0,460	0,480	0,473	0,435	0,390	0,407	0,410	1,15	1230	1164	1009	17,71
	CU 15	0,335	0,000	0,328	0,331	0,325	0,312	0,310	0,316	1,05	1665	1052	1152	16,65
	CU 16	0,000	0,385	0,372	0,371	0,253	0,325	0,290	0,290	1,28	1525	1110	885	18,30
	CU 17	0,548	0,532	0,550	0,543	0,500	0,450	0,483	0,481	1,12	840	912	811	13,40
	CU 18	0,420	0,390	0,430	0,413	0,330	0,305	0,370	0,335	1,23	1840	1520	1233	22,82
	CU 19	0,450	0,445	0,465	0,453	0,510	0,535	0,520	0,522	0,87	990	897	1034	11,88
	CU 20	0,520	0,500	0,500	0,506	0,325	0,330	0,390	0,348	1,46	1260	1275	807	20,16
	CU 21	0,260	0,248	0,240	0,249	0,286	0,290	0,260	0,279	0,89	1630	812	910	11,08
	CU 22	0,240	0,000	0,232	0,236	0,395	0,375	0,385	0,385	0,61	1510	713	1163	7,25
BASISDIÄT + 400 mg Allop.	CU 23	0,195	0,218	0,228	0,214	0,538	0,560	0,552	0,550	0,39	770	330	847	1,23
	CU 24	0,350	0,350	0,352	0,351	0,530	0,510	0,518	0,519	0,68	1445	734	1085	10,98
	CU 25	0,210	0,208	0,210	0,209	0,320	0,322	0,304	0,315	0,66	1650	690	1040	7,59
	CU 26	0,186	0,188	0,218	0,197	0,368	0,364	0,372	0,368	0,54	1130	445	832	3,62
	CU 27	0,198	0,196	0,222	0,205	0,408	0,402	0,418	0,409	0,50	1070	439	875	3,21
	CU 28	0,218	0,196	0,195	0,203	0,380	0,365	0,370	0,372	0,55	1270	516	945	4,32
	CU 29	0,188	0,185	0,180	0,184	0,392	0,390	0,398	0,393	0,47	1435	528	128	3,44

Fortsetzung Tabelle 10:

Nr.	$\longleftrightarrow$ E480 $\longrightarrow$		$\longleftrightarrow$ E412 $\longrightarrow$		$\bar{X}_{412}$	$\frac{\bar{X}_{480}}{\bar{X}_{412}}$		TAGES- VOL. (ml)	TAGESEXT.		OROTSÄURE EXCRETION (mg/die)
	←	→	←	→		←	→		480	412	
CU 30	0,190	0,196	0,190	0,192	0,460	0,458	0,470	900	346	833	1,80
CU 31	0,124	0,122	0,120	0,122	0,348	0,350	0,345	1530	373	1065	1,22
CU 32	0,196	0,200	0,195	0,197	0,480	0,490	0,500	950	359	916	1,52
CU 33	0,146	0,140	0,140	0,142	0,312	0,306	0,312	1590	426	960	3,18
CU 34	0,176	0,150	0,146	0,157	0,518	0,520	0,518	850	245	869	—
CU 35	0,104	0,108	0,108	0,107	0,250	0,250	0,240	1800	385	886	2,52
CU 36	0,170	0,150	0,150	0,156	0,430	0,430	0,432	1230	384	1060	0,98
CU 37	0,146	0,148	0,140	0,145	0,418	0,384	0,410	1240	357	1002	0,99

BASTISDIAT
+ 48 RNS

4. Graphische Darstellung der Ergebnisse

Abb. 9: Eichkurve für die Orotsäure
Mittelwerte aus Triplikaten



Exl. 430 mm

0.6

0.5

0.4

0.3

0.2

0.1

0.0

0.0

0.0

0.0

0.0

0.0

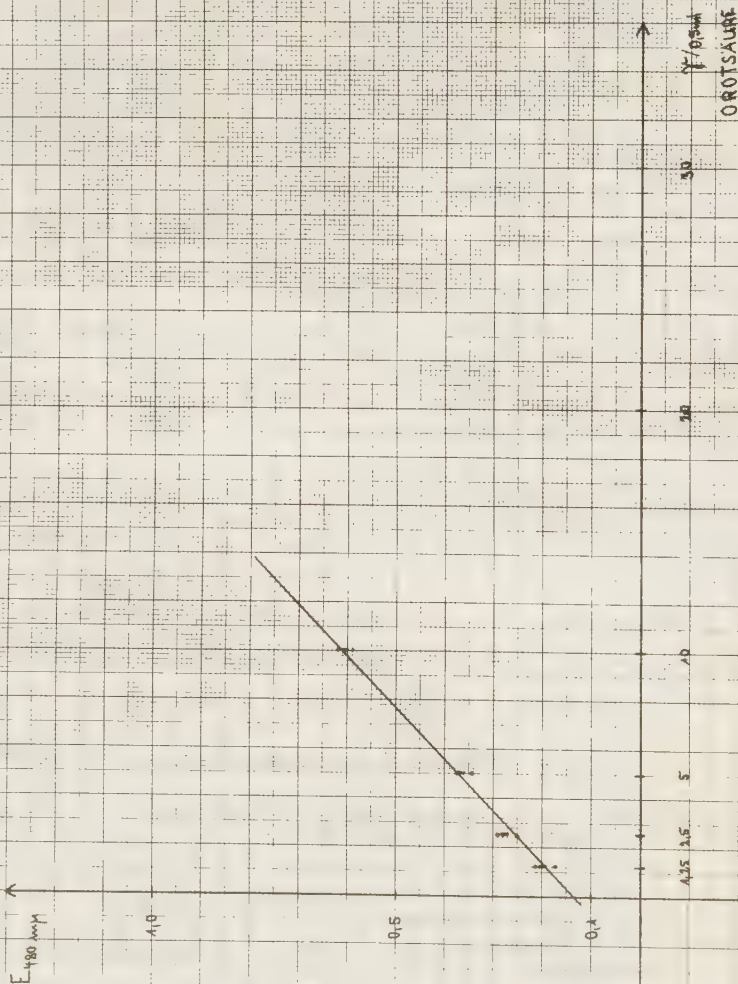
0.0

OROTSAURE

7/05 ml



Abb. 10: Eichkurve mit Urin und Orotsäure



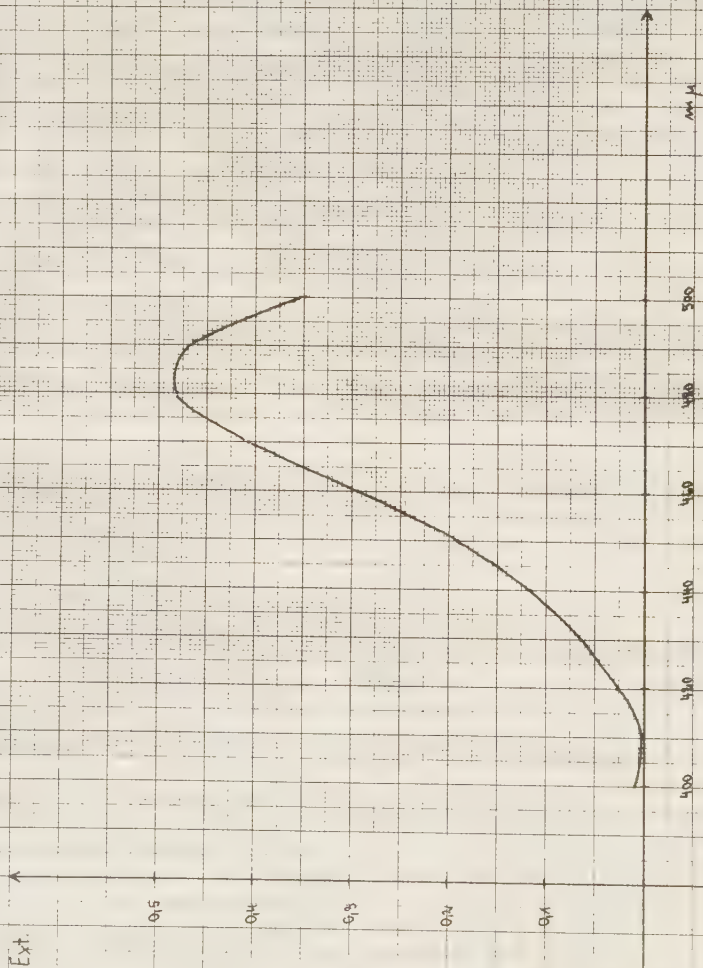


Abb. 12: Urinspektrum unter Basisdiät

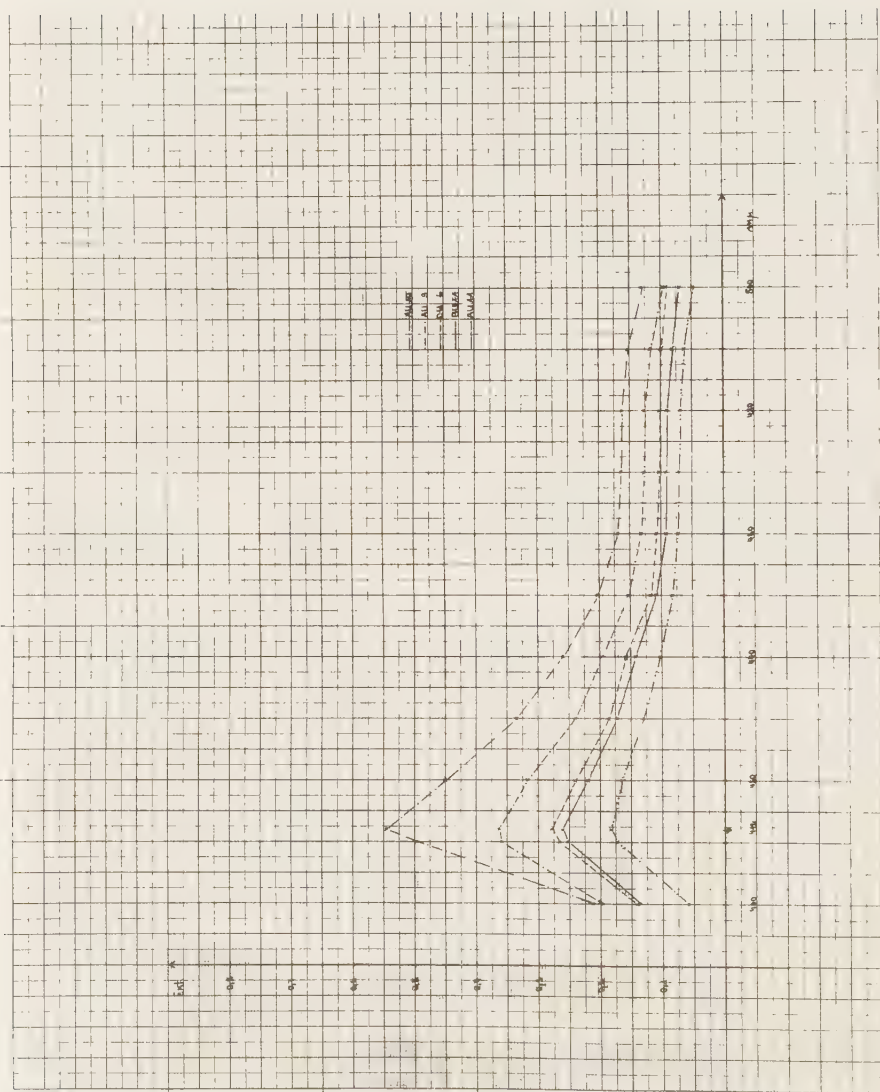


Abb. 13: Serumharnsäure und renale Orotsäureausscheidung
im Versuchsablauf

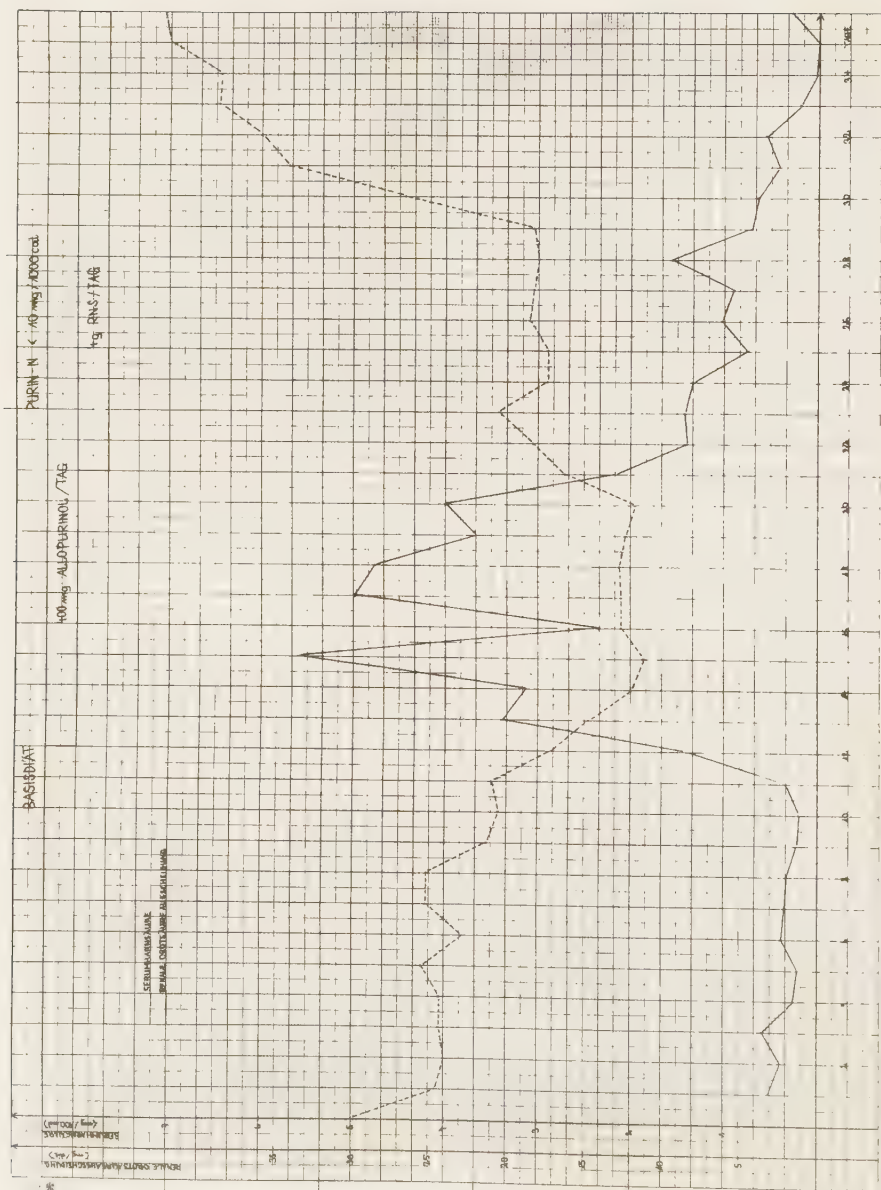


Abb. 14: Verhältnis $\bar{X}_{480}/\bar{X}_{412}$

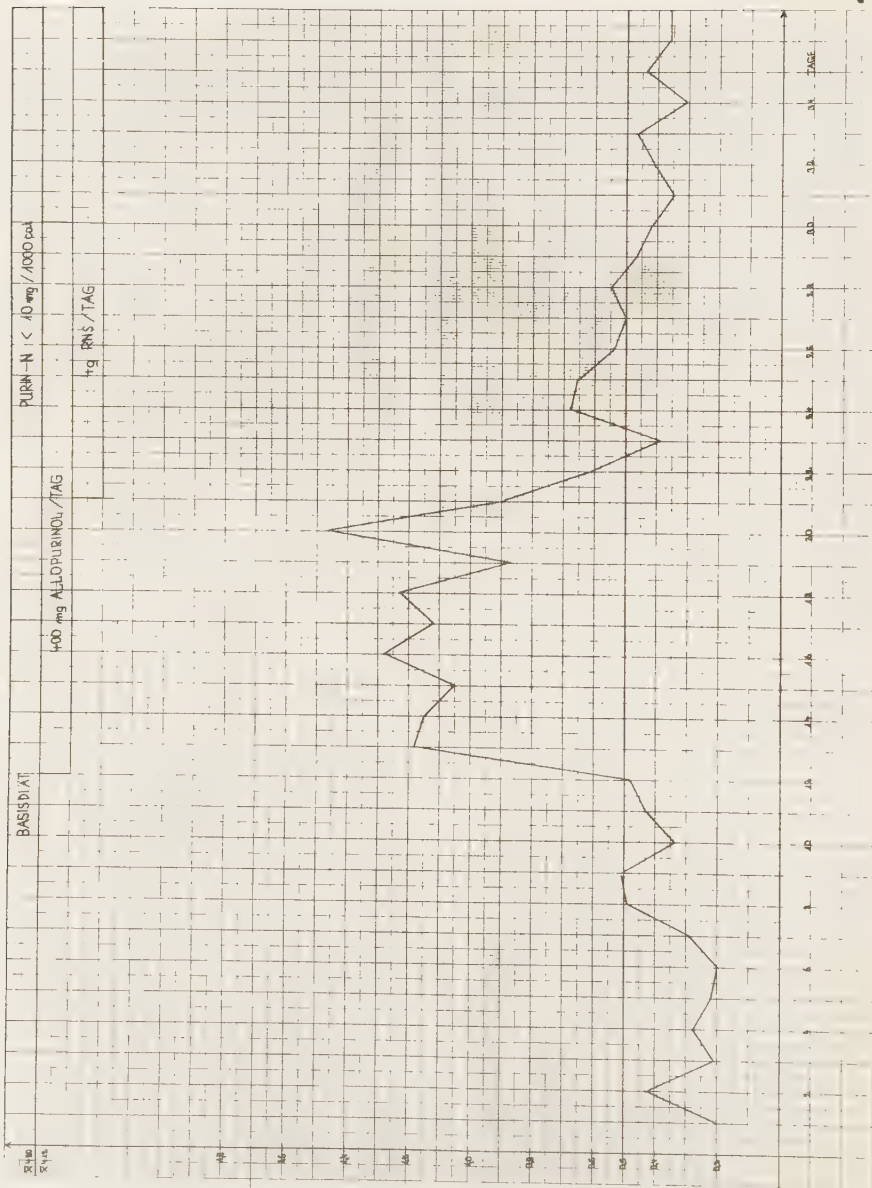
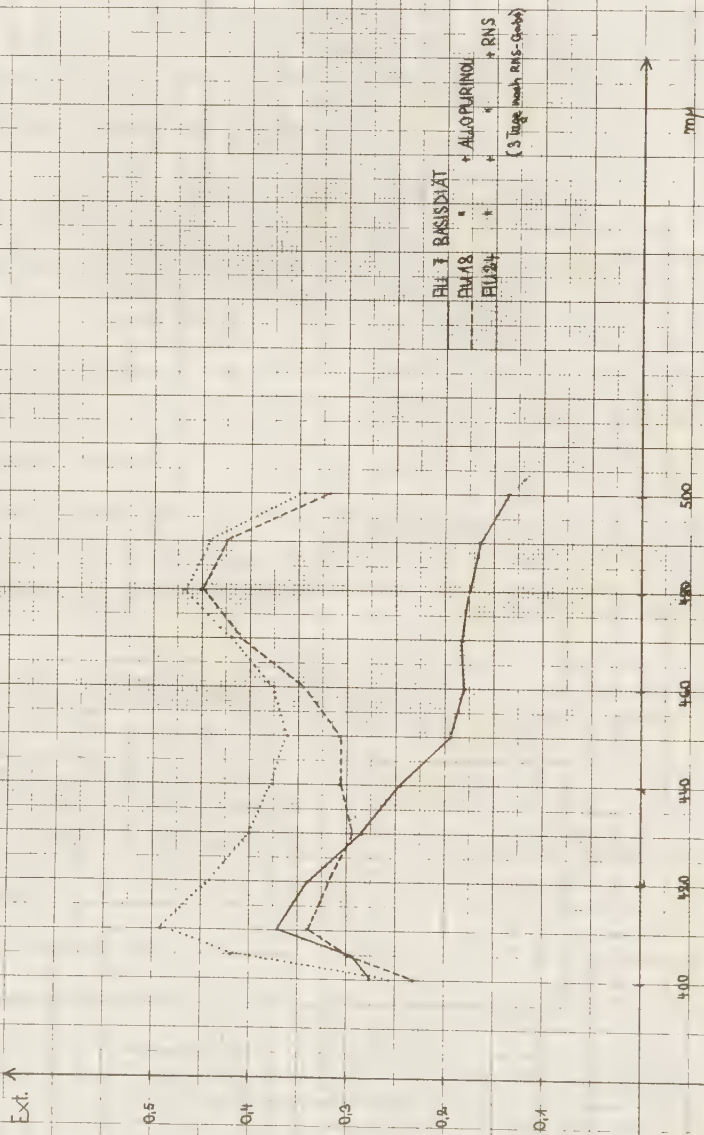


Abb. 15: Spektrum verschiedener Urinproben in den
einzelnen Versuchsabschnitten



III. DISKUSSION

1. Diskussion zu den Methoden

Die Methode zur enzymatischen Harnsäurebestimmung nach N. Zöllner hat sich gut bewährt als exakte Nachweismethode, sie wird deshalb vielfach im Labor angewandt.

Die Methode nach Rogers und Porter zur photometrischen Orotsäurebestimmung kann nach Aufstellung einer Eichkurve sogar mit einer Genauigkeit bis in den Bereich um $2\text{ }\mu\text{g/ml}$ für quantitative Aussagen dienen.

Orotsäure und Orotidin reagieren auf gleicher molarer Basis und können deshalb nur gemeinsam nachgewiesen und photometrisch bestimmt werden.

Die geringe Differenz der Triplikatergebnisse zeigt außerdem, daß die Methode verläßlich und, abgesehen von einer längeren Wartezeit auf die Farbreaktion, einfach zu handhaben ist.

2. Diskussion der Ergebnisse

Im Diätversuch konnte bestätigt werden, daß purinarmer Ernährung allein schon zu einer 30 % Senkung der Serumharnsäurekonzentration führt. Unter Allopurinolmedikation tritt eine weitere Senkung um nahezu 45 % auf. Weiterhin konnte gezeigt werden, daß exogene Purin-N-Belastung unter Allopurinolmedikation praktisch keinen Einfluß auf die Höhe des Serumharnsäurespiegels ausübt.

Vergleicht man dazu die Ergebnisse hinsichtlich der Orotsäure- und Orotidinausscheidung, so ergibt sich folgendes:

Normalerweise scheidet ein Erwachsener ca. 1,4 mg Orotsäure und etwa 2,5 mg Orotidin im 24 Std.-Urin aus (Smith, 1972). Wie schon erwähnt, erfolgte im vorliegenden Versuch keine getrennte Nachweismethode. Setzt man die mittlere Tagesausschei-

dung von Orotsäure unter Basisdiät in Beziehung zu den Literaturangaben, so erhält man ein vergleichbares Ergebnis von ca. 1,48 mg/die.

Die durch Allopurinol induzierte Orotazidurie (im Mittel ca. 19,4 mg/24 Std.-Urin) im Versuchsabschnitt II stimmt mit den Ergebnissen von Fox und Mitarb. (1970) überein. Sie beruht darauf, daß Allopurinol außer der hinreichend bekannten Wirkung im Purinstoffwechsel auch entscheidend in die Pyrimidinbiosynthese eingreift. Genauer muß eine hemmende Wirkung auf das Enzym Orotidyl-Dekarboxylase, dem zweiten von zwei aufeinanderfolgenden Enzymen, die die Umwandlung von Orotsäure zu Uridinmonophosphat katalysieren, angenommen werden (Kelley et al., 1970). Dies wird von Kelley und Beardmore (1970) in vitro und von Beardmore und Mitarb. (1971) in vivo bestätigt.

Ribonukleinsäurezufuhr reduziert die durch Allopurinol induzierte Orotazidurie um ca. 75 %.

Man kann annehmen, daß die Verabreichung von Ribonukleinsäure unter Allopurinolmedikation etwa die Bildung der Hemmsubstanz in der Pyrimidinbiosynthese verhindert.

Andererseits bestünde die Möglichkeit einer Unterdrückung der endogenen Pyrimidinsynthese durch exogen zugeführte Pyrimidin-derivate. Für diese Annahme spricht der Behandlungserfolg mit Uridin bei homozygoter Orotazidurie von Kindern. Unter der über einem Zeitraum von sechs Jahren beobachteten Uridintherapie verminderte sich auch die Orotsäureausscheidung (Becroft und Mitarb., 1969). Es scheint, daß der Stoffwechselblock mit Uridin z.B. als Pyrimidinderivat umgangen werden kann.

Der genaue Wirkungsmechanismus ist unklar und muß in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde anhand dreier Versuchspersonen die Wirkung von Ribonukleinsäure auf die durch Allopurinol induzierte Orotazidurie innerhalb eines in vier Phasen verlaufenden Diätversuchs untersucht. Parallel dazu erfolgte die Kontrolle des Serumharnsäurespiegels.

1. Unter der Basisdiät trat keine "pathologische" Orotazidurie auf. Der Serumharnsäurespiegel wurde jedoch um etwa 30 % gegenüber Normalkost gesenkt.

2. Die Allopurinolmedikation bewirkte eine Steigerung der Orotsäure- und Orotidinausscheidung im Urin um mehr als das Zehnfache. Gleichzeitig wurde der Serumharnsäurespiegel um weitere 45 % gesenkt.

3. Eine weitgehende Aufhebung der medikamentös induzierten Orotazidurie wurde durch Verabreichung von Ribonukleinsäure erzielt. Die exogene Purin-N-Belastung beeinflusste die Serumharnsäurekonzentration unter Allopurinolmedikation kaum.

4. Nach der Absetzung von Allopurinol kehrte die Orotazidurie unter Beibehaltung der Basisdiät und Ribonukleinsäurezufuhr in etwa zur Ausgangssituation zurück. Die exogene Purin-N-Belastung führte zu einer deutlichen Steigerung der Serumharnsäurekonzentration.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Beardmore T.D. und Kelley W.N. Mechanism of allopurinol-mediated inhibition of pyrimidine biosynthesis.
J. Lab. clin. Med. 78 (1971) 696-704
2. Becroft D.M.O., Phillips L.J. und Simmonds A. Hereditary orotic aciduria: Longterm therapy with uridine and a trial of uracil.
J. Pediat. 75 (1969) 885
3. Feigelson P., Davidson J.D. und Ronbins R.K. Pyrazolopyrimidines as inhibitors and substrates of xanthine oxidase.
J. biol. Chem. 226 (1957) 993
4. Fox R.M., Royse-Smith D. und O'Sullivan W.J. Orotidinuria induced by allopurinol.
Science 168 (1970) 861
5. Goldfinger S.E., Klinenberg J.R. und Miller J.E. The renal clearance of oxipurines.
J. clin. Invest. 44 (1965) 623
6. Huguley C.M., Brain J.A., Rivers S.L. und Scoggins R.B. Refractory megaloblastic anemia associated with excretion of orotic acid.
Blood 14 (1959) 615
7. Kelley W.N. und Beardmore T.D. Allopurinol: Alteration in pyrimidine metabolism in man.
Science 169 (1970) 388
8. Mertz D.P. Gicht-Grundlagen, Klinik und Therapie.
Thieme Verlag (1973)

9. Rogers L.E. und
Porter F. St. Hereditary orotic aciduria,
a urinary screening test.
Pediatrics 42 (1968) 423
10. Smith L.H.jr.,
Huguley C.M. und
Brain J.A. Hereditary orotic aciduria.
The metabolic basis of inherited
disease. Third edition.
Edited by Stanbury J.B.,
Wyngaarden J.B., Fredrickson D.S.
p.1003, McGraw-Hill, New York, 1972.
11. Smith L.H. jr. New Engl.J.Med. 288 (1973) 764
12. Sweetman L. und
Nyhan W.L. Excretion of hypoxanthine and xanthine
in a genetic disease of purine
metabolism.
Nature 215 (1967) 859
13. Zöllner N. Modifikation der enzymatischen
Harnsäurebestimmung.
Z. klin. Chemie, 1963

ANHANG

DIÄTSPEISEPLÄNE

1. Speisenplan:

Frühstück:	Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben und 2 Teel. Kondensmilch 7,5 % F 2 Scheiben Weißbrot (50 g) 2 Scheiben Mischbrot (80 g = von einem langen Brot 2 Scheiben je 1/2 cm dick) 3 Scheibletten Edamer Käse o.a. 40 % Fett 20 g Butter/Margarine od. mehr 25 g = 1 Eßl. Marmelade
Mittagessen:	2 Brötchen 3 Scheiben Pumpernickel 20 g Butter/Margarine 1 Gervais-Käse
Zwischenmahlzeit:	1 gr. Apfel (ca. 200 g) 1/4 l Trinkmilch 50 g Zweiback (1/2 Tafel Schokolade)
Abendessen:	Nudelomlett von 2 Eiern 100 g Nudeln 1/3 Tasse (50 g) Milch 1 Teel. Öl Kopfsalat (1 Tasse, 30 g) angemacht mit 1 Teel. Öl, Zucker nach Belieben
Getränke:	Apfelsaft Tee mit Zucker Weißwein

Nudelomlett:

Nudeln in Salzwasser weich kochen. Öl in der Pfanne erhitzen, Nudeln darin schwenken. Zwei Eier mit der Milch und Gewürzen wie Salz, Muskat, Petersilie, Paprika verquirlen, über die Nudeln gießen und fest werden lassen.

2. Speisenplan:

Frühstück: Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben
und 2 Teel. Kondensmilch, 7,5 % Fett
1 Scheibe Mischbrot (von einem langen Brot
3 Toast-Scheiben zu je 1/2 cm)
(1/2 Pack. Speisequark 20 % F (125 g))
2 Eßl. Pflaumenmus

Mittagessen: 4 Brötchen
20 g Butter/Margarine
4 Scheibletten Gouda (80 g) 45 % F

Zwischenmahlzeit: 2 Bananen
1/2 l Trinkmilch
50 g Zweiback
(1/2 Tafel Milkschokolade)

Abendessen: Brühe (aus gekörnter Brühe od. Brühwürfel)
1 Suppentasse mit
Tomatenwürfel von einer kleinen (kleiner
als 1 Ei) Tomate und 1 Eßl. (120 g) Parme-
sankäse, gerieb.
Grießbrei von
1/4 l Trinkmilch und
40 g Grieß mit Zucker und
1 Eßl. Butter/Margarine
1 Tasse Pflaumenkompott
1 Sch. Mischbrot (s. oben) mit
10 g Butter/Margarine

Getränke: Apfelsaft, Tee mit Zucker
Weißwein

3. Speisenplan:

Frühstück:	Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben und 2 Teel. Kondensmilch 3 Toast-Scheiben 10 g Butter/Margarine 50 g Camembert, 45 % Fett
Mittagessen:	3 Brötchen oder 2 Brötchen + 1 Bretzel 30 g Butter/Margarine 50 g Emmentaler Käse 1 Becher Joghurt
Zwischenmahlzeit:	1 große Apfelsine (200 g) 250 g Kakao 50 g Zwieback (1/2 Tafel Milkschokolade)
Abendessen:	Eier in Senfsoße (2 Stück) 3 Kartoffeln, je 60 g (eigroß) (1 Schälchen Ananas-Kompott)
Getränke:	Apfelsaft + Orangensaft Tee, Kaffee Weißwein, Rotwein

Eier in Senfsoße:

Eier weich kochen, kalt abschrecken, schälen.

Soße: 1 Eßl. Öl in einem Topf erhitzen, 2 gestr. Teel. Mehl dazugeben und 1/2 würfelig geschnittene Zwiebel kurz dünsten. Soße mit Wasser (etwa 1 Tasse) ablöschen, gut durchkochen lassen. Mit Senf, Salz, gekörnter Brühe, einer Prise Zucker abschmecken, Eier hineingeben und heiß werden lassen.

4. Speisenplan:

Frühstück: Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben und
 2 Teel. Kondensmilch
 2 Scheiben Mischbrot (von einem langen Brot
 2 Scheiben je 1/2 cm dick)
 30 g Butter/Margarine
 1 Ei
 1 Eßl. Honig

Mittagessen: 1 Pack. Quarkspeise (250 g) mit Früchten
 2 Scheiben Mischbrot mit
 20 g Butter

Zwischenmahlzeit: 1 große Grapefruit
 1/4 l Trinkmilch
 50 g Zwieback
 (1/2 Tafel Milchsokolade)

Abendessen: gedünsteter Reis (100 g) mit
 Käsesoße
 (Mandarinenkompott a.d. Dose)

Getränke: Apfelsaft
 Orangensaft
 Tee od. Kaffee
 Weißwein, Rotwein

Käsesoße:

1 Eßl. Öl in einem Topf erhitzen, 1 Eßl. (wenig gehäuft)
Mehl dazugeben, mit 1 Tasse (150 g) Milch ablöschen, gut
durchkochen lassen. 1 1/2 Ecken Schmelzkäse, 45 % Fett,
darin zergehen lassen, die Soße abschmecken mit etwas
Paprika, gekörnter Brühe, evtl. wenig Petersilie.

5. Speisenplan:

Frühstück: Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben
2 Teel. Kondensmilch 7,5 % Fett
2 Scheiben Pumpernickel
3 Scheiben Toast
30 g Butter/Margarine
1 Eßl. Marmelade
1 Becher Trinkmilch-Joghurt

Mittagessen: 3 Scheiben Toastbrot
2 Scheiben Mischbrot
2 Eßl. (wenig gehäuft) Mayonnaise
2 hartgekochte Eier
1 kleine Essiggurke

Zwischenmahlzeit: 1 großer (ca. 200 g) Apfel
1/4 l Trinkmilch
50 g Zwieback
(1/2 Tafel Vollmilch-Schokolade)

Abendessen: Käse-Nudelsalat s. Rezept
1 Tasse Kompott (Libbys Obstcocktail
od. Kirschen)

Getränke: Apfelsaft, Orangensaft,
Tee mit Zucker, Kaffee mit Zucker,
Limonaden
Weißwein, Rotwein

Käse-Nudelsalat:

80 g (ca.!) Nudeln (Hörnchen) in Salzwasser weichkochen
100 g Edamer Käse, 40 % Fett, in feine Streifen schneiden
1 Kleiner Apfel in Stifte schneiden
1/2 kleine Zwiebel fein schneiden

Alle Zutaten miteinander vermischen und mit Gewürzen: Salz,
Pfeffer, Paprika, Essig abschmecken.

6. Speisenplan:

- Frühstück: Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben
2 Teel. Kondensmilch
2 Scheiben Toast-Brot (50 g)
2 Scheiben Pumpernickel
30 g Butter/Margarine
1 Ei
1/2 Brie-Käse, 50 % Fett (50 g)
1 EBl. Honig
- Mittagessen: Gedünstete Gurke s. Rezept
2 Scheiben Toast mit
20 g Butter
125 g Speisequark 20 % Fett mit Kompott
- Zwischenmahlzeit: 1 große Apfelsine (200 g)
1/4 l Trinkmilch
50 g Zwieback
(1/2 Tafel Milkschokolade)
- Abendessen: 4 Scheiben Toastbrot (100 g) bestrichen mit
20 g Butter/Margarine, belegt mit
Ananas und
3 Scheibletten Käse (zusammen 80 g) 45 % Fett
(nach Wunsch kann man den Toast im Backofen
bei starker Hitze kurz überbacken, bis der
Käse zu schmelzen beginnt).
- Getränke: Tee oder Kaffee mit Zucker
Apfelsaft, Orangensaft, Limonaden
Weißwein, Rotwein

Gedünstete Gurke:

150 g grüne Gurke in Scheiben schneiden.
1 EBl. Öl im Topf erhitzen, die Gurkenscheiben dazugeben und etwa
10 Minuten mit Salz, evtl. Dill od. Petersilie dünsten - etwa
1/2 Tasse Wasser dazugeben. Die Soße mit 1 gehäuften Teel. Mehl
binden, abschmecken mit Salz, etwas gekörnter Brühe und einer
Prise Zucker.

7. Speisenplan:

Frühstück: Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben
2 Teel. Kondensmilch
1 Scheibe Mischbrot (von einem langen Brot
je 1/2 cm)
3 Scheiben Toast

30 g Butter/Margarine
1/2 Pack. (125 g) Speisequark 20 % Fett
1 Eßl. Marmelade

Mittagessen: 4 Brötchen mit
20 g Butter/Margarine
75 g Emmentaler Käse, 45 % Fett

Zwischenmahlzeit: 2 gr. Bananen
1/4 l Trinkmilch
50 g Zwieback
(1/2 Tafel, 50 g, Vollmilchschokolade)

Abendessen: Kaiserschmarrn, von 2 Eiern, s. Rezept
Apfelmus,
1 Scheibe Mischbrot (s. oben)
mit 5 g Butter

Getränke: Kaffee oder Tee mit Zucker
Orangensaft, Apfelsaft, Limonaden
Weißwein, Rotwein

Kaiserschmarrn:

2 Eier mit
1 Tasse Milch und
2 gehäuften Eßl. Mehl verquirlen,
1 Prise Salz zugeben.
1 1/2 Eßl. Öl in einer Pfanne erhitzen, den Teig hineingeben
und goldgelb backen lassen, dann grob zerteilen und durchein-
ander mischen, rundherum goldgelb backen lassen.

An dieser Stelle darf ich allen meinen Lehrern
sehr herzlich danken.

Besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. Gröbner
für die Stellung des Themas und die Beratung bei
der Durchführung der Arbeit.

Meinen Dank möchte ich auch allen aussprechen, die
sich am Diätversuch beteiligt haben.

Dem Labor der Forschergruppe Ernährung an der Uni-
versitäts-Poliklinik danke ich für die technische
Unterstützung.

LEBENS LAUF

Am 12. Januar 1947 wurde ich als Tochter des Drogisten Alfons Hoetschl und seiner Ehefrau Josephine, geb. Drescher, in München geboren.

Vier Jahre lang besuchte ich eine Münchner Volksschule; im Jahre 1957 erfolgte der Übertritt an das Maria-Ward Realgymnasium in München-Nymphenburg, wo ich im Juli 1966 das Reifezeugnis erwarb.

Im Sommersemester 1967 nahm ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München das Studium der Humanmedizin auf. An dieser Hochschule bestand ich am 22. Juni 1973 die ärztliche Prüfung.

Im Jahre 1974 erfolgte meine Eheschließung.

Nach einer einjährigen Medizinalassistentenzeit in den Städtischen Krankenhäusern München-Schwabing und München-Harlaching sowie im Krankenhaus des III. Ordens in München-Nymphenburg erhielt ich am 3. Dezember 1974 die Approbation als Arzt.

